
Macrophage와 Glycated-LDL의 Uptake 및 산화에 미치는 몇 가지 Effector의 효과

조현미 · 유승재 · 정희경 · 황기철¹ · 장양수¹ · 신승언² · 김태웅

강원대학교 생화학과, 연세대학교 심혈관연구소¹, 한림대학교 환경생명과학연구소²

Effects of Effectors on Uptake and Oxidation of Glycated-LDL

Hyun-Mi Cho, Seung-Jae You, Hee-Kyung Jung, Ki-Chul Hwang¹,
Yang-Su Jang¹, Seung-Uon Shin² and Tae-Woong Kim

Division of Life Sciences, Kangwon National University, Chuncheon, Korea

Yonsei Cardiovascular Research Center, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea¹

Institute of Environment & Life Sciences, Chuncheon, Korea²

Abstract

Objective: Diabetes is associated with accelerated atherosclerosis, with the incidence of cardiovascular disease in diabetic patients, three to four times that of nondiabetic individuals. Glucose reacts with LDL in a process known as nonenzymatic glycation. Also, oxidation of LDL is a factor in the development of atherosclerosis. From the previous study, we found that M-CSF and PMA increased the viability of macrophage while LPS and dexamethasone decreased. In the present study, effects of effectors on uptake and oxidation of glycated-LDL on HMDM(human monocyte derived macrophage) were tested.

Methods: Glycated-LDL was labelled with 5-iodoacetamide(5-IAF) in order to investigate both binding and degradation of glycated-LDL by human monocyte derived macrophage. Also, the electrophoretic mobility and thiobarbituric acid reactive substance(TBARS) value of glycated-LDL were compared.

Results: From the experimental results on the effects of target molecules on glyco-oxidation of LDL, M-CSF and PMA enhanced the LDL glycooxidation and mobilities on agarose gel electrophoresis whereas LPS and dexamethasone decreased. Also, effects of effectors on the viability of macrophage and uptake of glycated-LDL showed the same results from the glycooxidation of LDL.

Conclusion: Finally, we concluded that effects of effectors on the viability of macrophage and uptake of glycated-LDL showed the same pattern compared to the glycooxidation of LDL. And it appears that factors such as viability, macrophage uptake, and glycooxidation are related on the development of atherosclerosis.

Key Words: glyco-oxidation, glycated-LDL, uptake test, macrophage, LPS (Lipopolysaccharide), M-CSF (macrophage-Colony Stimulating Factor), PMA (Phorbol-12 Myristate13-Acetate), dexamethason

책임저자 : 김태웅

강원도 춘천시 효자동 강원대학교 생명과학부 생화학전공, Tel: 033)250-8515, Fax: 033)242-0459

E-mail : tawkim@kangwon.ac.kr

서 론

동맥경화는, 혈중에 있는 lipoprotein의 농도가 높아지거나 modified-LDL의 형성에 의해 일어나며 동맥벽에 가해지는 생물학적 손상이 반복적으로 가해지며 내막층이 갈라지거나 얇아져서 LDL, modified LDL, 혈액속의 monocyte, 분화된 macrophage 등의 세포들이 내막의 틈으로 들어가 내막 아래에 축적된다¹. Macrophage는 oxidized-LDL 및 modified LDL에 대해서 조절능력을 상실하여 macrophage에 과산화 지질의 축적과 콜레스테롤의 계속된 축적이 일어나고 결과적으로 콜레스테롤과 콜레스테롤 에스터 등이 주성분인 지질이 침착된 foam cell을 형성하게 된다^{2,3}. 또한, macrophage는 oxidized-LDL의 과다한 침착으로 유도된 foam cell로 형성된 죽상동맥의 초기 병변 이라고 생각되는 fatty streak과 fibrous plaque의 형성을 야기시킬 수 있다. 이러한 물질이 조직에 들어가게 되면 cholesterol-rich LDL에 의해 지방성분을 함유하게 됨과 동시에 TNF, IL-6, M-CSF, IL-1 β 등의 증식인자를 분비하여 평활근 세포와 결합조직 세포가 증식을 일으키게 만들어 동맥벽이 두꺼워지며, 내막 또한 동맥내강 쪽으로 튀겨워지고 혈액속의 혈소판들이 내벽에 붙어서 역시 증식인자를 분비하여 근처의 세포를 증식 시키며, 결국 지방질을 많이 포함한 죽종을 형성하게 된다⁴. 이런 동맥벽의 변화는 동맥벽의 손상과 변성을 일으키는 위험요인인 ox-LDL 혹은 Glycated-LDL에 의해 동맥경화를 유발한다^{5,6,7}.

전 실험⁸의 결과에서, M-CSF와 PMA는 macrophage의 분화에 stimulator로 작용하지만 LPS와 dexamethason은 반대로 억제효과를 보인다는 결과를 얻었으므로, 본 연구에서는 이러한 effector들이 macrophage와 glycated-LDL의 uptake에 어떻게 작용하며 또한 glycated-LDL의 glyco-oxidation에서의 효과를 비교하였다.

재료 및 방법

1. 시약

M-CSF (Macrophage-Colony Stimulating Factor), PMA (Phorbol-12 Myristate 13-Acetate), LPS (Lipopolysaccharide), Dexamethasone, RPMI 1640, HBSS (Hank's Balanced Salt Solution), Agarose, RBC lysis buffer, Penicilline, TBA (Thiobarbituric acid), Ficoll/Hypaque 등은 Sigma Chemical Company (St, Louis, MO, U.S.A)에서 구입하였고, FBS (Fetal Bovine Serum)과 5-IAF (5-Iodoacetamide fluorescein)는 각각 Molecular Probes (Eugene, OR, U.S.A)와 Cal Biochem (La Jolla, CA)에서 구입하여 사용하였다. Whole blood와 plasma는 대한적십자사 혈액원에서 구입하여 본 실험에 사용하였다.

2. LDL의 분리와 Glycation

모든 방법은 전 실험⁸과 동일하며, 혈액원으로 부터 구입한 정상인의 혈장을 재료로 하여 KBr로 density (1.019~1.063 g/mL)를 맞춘 후 초원심분리기를 이용하여 분리하였다. 원심분리 과정에는 0.05% EDTA, 0.05% NaN₃ 그리고 aprotinin을 첨가하였다. 위의 과정을 통해 분리된 LDL을 phosphate-buffered saline (PBS, pH 7.4)으로 24시간 동안 4℃에서 투석한 뒤 농도는 Lowry method를 통해 결정하였다²³. LDL glycation은 먼저 LDL에 100 mM의 glucose와 pH 7.4의 PBS를 넣어준 후 배양기의 온도를 37℃로 고정시켜서 실험에 필요로 되는 시간만큼 배양하였다. 단백질과 반응하지 않은 glucose를 제거하기 위해 50 mM, pH 7.4의 PBS로 투석 한 후 본 실험에 사용하였다.

3. Whole blood로 부터의 Monocyte분리

채혈한지 24시간 이내의 혈액을 구입하여, 전 실험⁸과 동일하게 Ficoll/Hypaque gradient centri-

fugation을 이용하여 분리하였다. 동량의 혈액을 Ficoll/Hypaque 위에 pasteur pipet으로 섞이지 않게 조심스럽게 올려놓고 2,300 g에서 20분간 원심분리한다. 이렇게 하면 네 개의 층으로 분리되는데 lymphocyte층만 떠난다. HBSS로 씻어준 후 다시 순차적으로 1,800 g 1,600 g 1,300 g 900 g에서 10분간 원심분리 한다. 이것을 다시 적정량의 HBSS로 희석한 후 소량을 취해 trypan blue로 염색해서 hemacytometer로 cell수를 결정한 후 plating한다. 참고로 본 실험에 사용된 cell의 수는 2×10^6 /well이며, 적정량의 세포를 plating한 후 약 3시간 가량 serum이 없는 RPMI 1640을 이용하여 preincubation한 후에 상층액을 제거하고 10% FBS를 포함한 RPMI 1640 100 μ L로 세 번 washing한 후 5% CO₂ gas를 포함하고 있는 배양기에서 30시간 배양하여 실험하였다.

4. Glycated LDL의 5-IAF labelling

Glycated LDL의 molar ratio에 대한 10배 정도의 0.1 M ammonium bicarbonate (pH 8.0)에 녹인 5-IAF (5-Iodoacetamide fluorescein)를 넣고 4°C에서 magnetic bar를 이용하여 천천히 24시간 정도 stirring 하였다. 이것을 다시 3×20 cm Sephadex G-50 column을 이용하여 filtration해서 fluorescent product를 얻었다. unbound 5-IAF를 제거하기 위해 nitrogen gas를 사용하여 ultrafiltration해서 얻어낸 glycated-5-IAF-LDL을 본 실험에 사용하였다¹⁵.

5. Macrophage에 의한 5-IAF labelled

Glycated-LDL의 Uptake test

5-IAF로 label된 glycated-LDL을 macrophage와 30시간 배양한 후 supernatant와 pellet을 분리해서 fluorescence spectrophotometer를 이용하여 excitation wavelength 493, emission wavelength 520 nm에서 scan하였다. pellet은 0.5 M NaOH를 이용하여 lysis하여 얻었다.

6. Agarose gel electrophoresis.

Glycation된 LDL에 대한 electrophoretic mobility의 변화정도를 알아보기위해 실시 하였으며 0.5% agarose gel을 사용하였고 사용된 buffer는 pH 8.6의 barbital buffer를 사용하였다.

7. TBARS의 측정

LDL에 포함되어 있는 lipid성분의 산화 정도는 TBARS method를 이용하여 측정하였다¹³. EDTA와 BHT를 넣은 후 LDL에 TCA를 넣어 단백질을 침전시켰고 이것을 원심분리하여 상층액만 수거하였다. 분리된 상층액에 TBA를 넣어 반응시킨 후 532 nm에서 흡광을 측정하여 standard와 비교하여 data값을 얻었다.

결 과

1. Macrophage와 glycated LDL의 결합 (Uptake)에 미치는 target molecule의 영향

Macrophage와 결합하는 uptake test는 60일 glycation시킨 glycated-LDL이 사용되었고, uptake 측정을 위한 marker로 단백질 농도에 대한 10배의 5-IAF를 첨가하여 24시간, 4°C cold chamber에서 반응을 시킨 후, sephadex G-50 column을 이용하여 filtration하였고 다시 ultrafiltration kit를 사용하여 결합하지 않은 5-IAF를 제거한 후 본 실험에 사용 하였다. cell을 먼저 plate바닥에 attachment 시키기 위해 37°C, 5% CO₂ 조건의 incubator에서 4시간 정도 preincubation하여 medium을 갈아주었고 이때 각각의 effector와 5-IAF labelled glycated-LDL을 함께 넣은 후, 일정시간 배양하여 결과를 얻었다. 본 실험에서는 supernatant와 pellet을 분리하여 결과를 얻었으며 supernatant는 원심분리 후 형광을 측정하여 결합하지 않은 (unbound)5-IAF labelled glycated-LDL양으로 하였으며, pellet

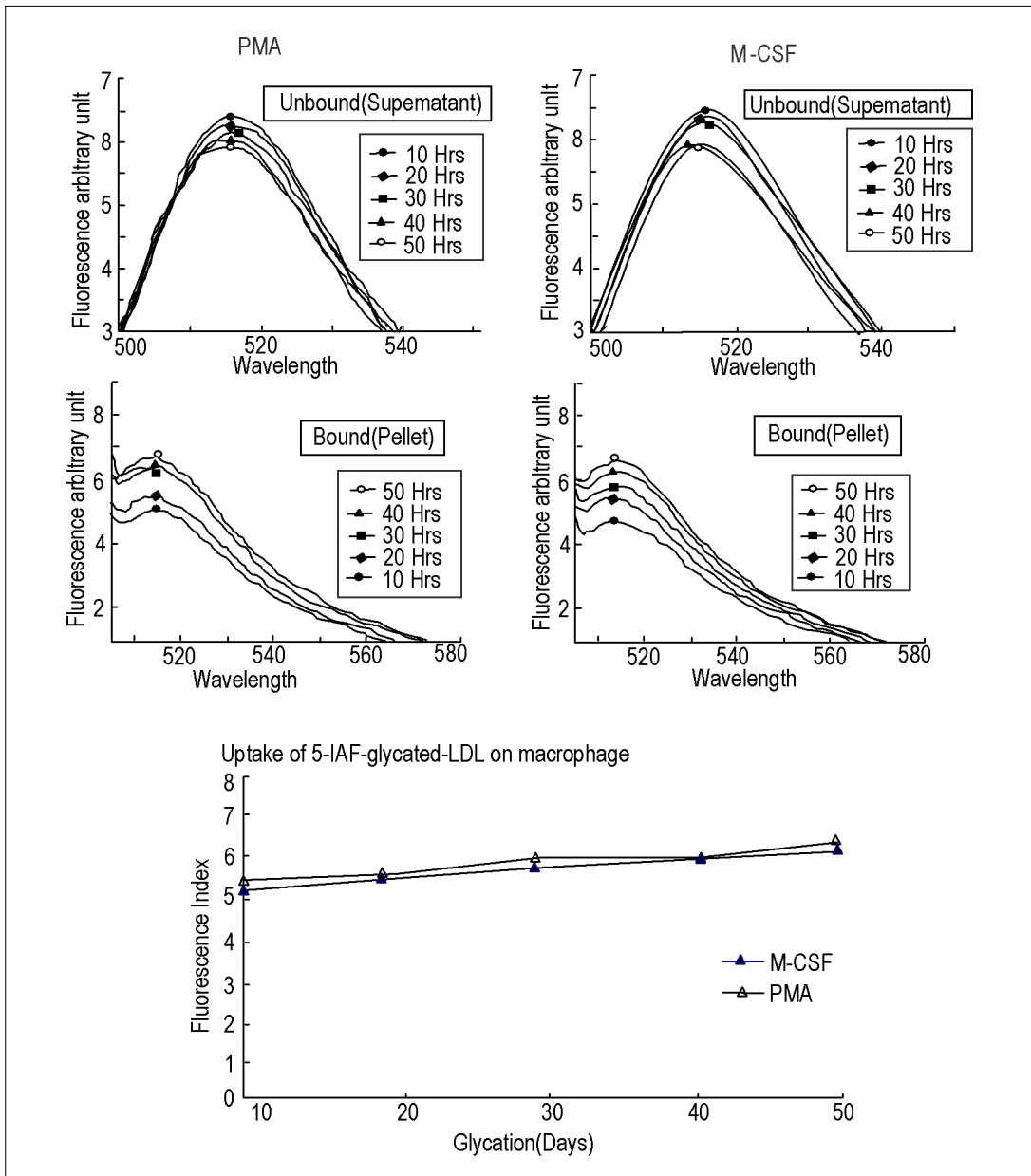


Fig. 1. Comparison of binding of 5-IAF-glycated-LDL on macrophage in the presence of PMA and M-CSF. Glycated-LDL (60 days) was labelled with 5-IAF, and incubated with macrophage for a period of time (10, 20, 30, 40 and 50 hrs). Excitation and emission wavelength were 493 and 520 nm, respectively.

은 0.5 M NaOH 1 mL를 가한 후 용해시켜 fluorescence (Ex 493, Em 520 nm)에서 흡광을 측정하여 결합된 (bound)5-IAF labelled glycated-LDL의 양으

로 하였다.

Fig. 1의 M-CSF와 PMA의 supernatant (unbound)를 비교하면, 시간이 지남에 따라 배지속에 포함

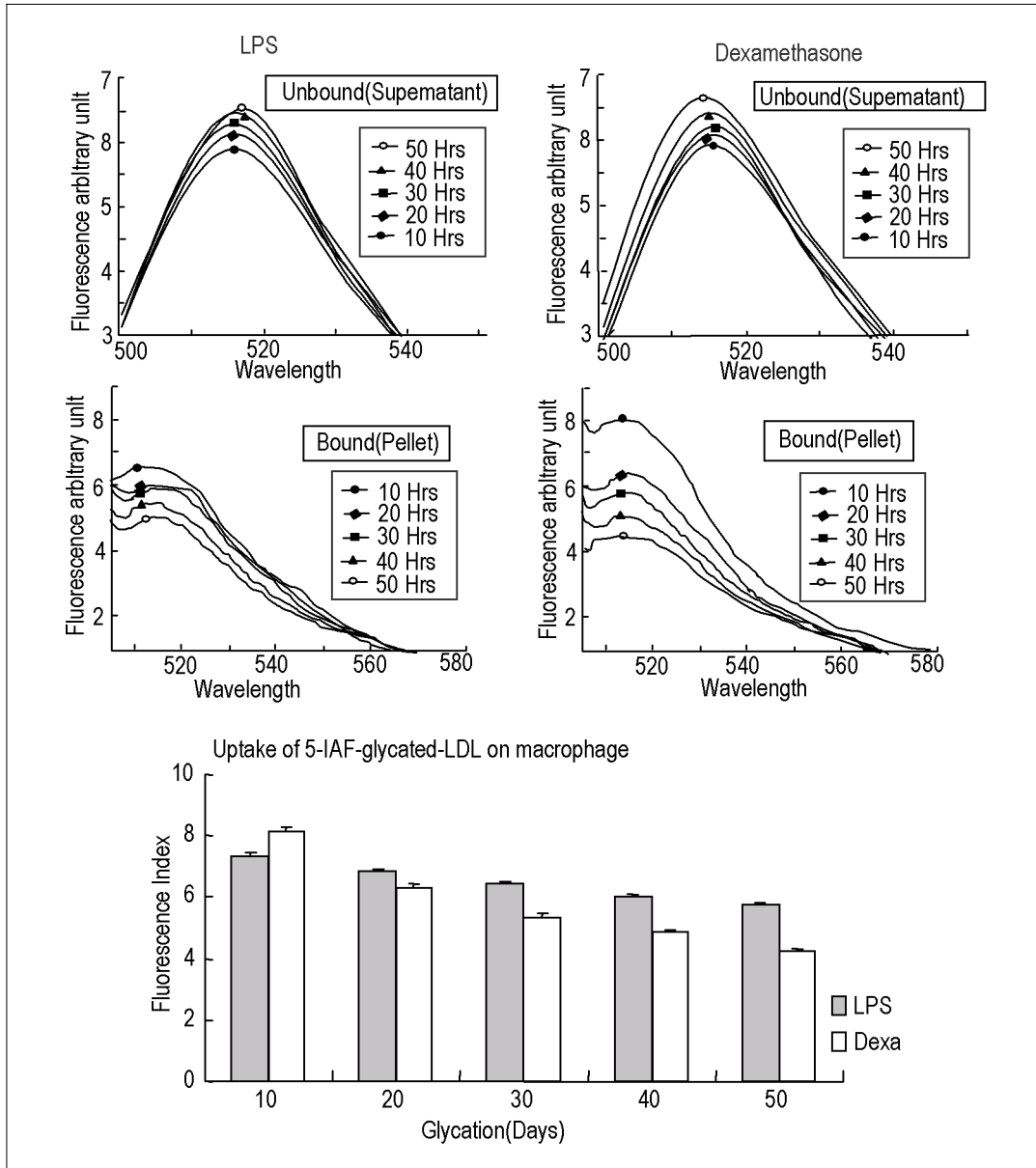


Fig. 2. Comparison of binding of 5-IAF-glycated-LDL on macrophage in the presence of LPS and Dexamethasone. Glycated-LDL (60 days) was labelled with 5-IAF, and incubated with macrophage for a period of time (10, 20, 30, 40 and 50 hrs). Excitation and emission wavelength were 493 and 520 nm, respectively.

되었던 5-IAF labelled glycated-LDL의 양이 감소함을 보이며, pellet (bound)은 결합시간이 지남에 따라 높은 흡광값을 나타내었다. 전 실험⁷의 MTT assay에서 나타난 결과와 같이, 배양시간이 증가

함에 따라 macrophage cell의 분화 정도가 증가한다는 결과와 유사하게 이 배지속의 5-IAF labell된 gly-LDL이 macrophage에 의한 uptake정도가 증가하는 것을 보여주었다. pellet (bound된)의 경

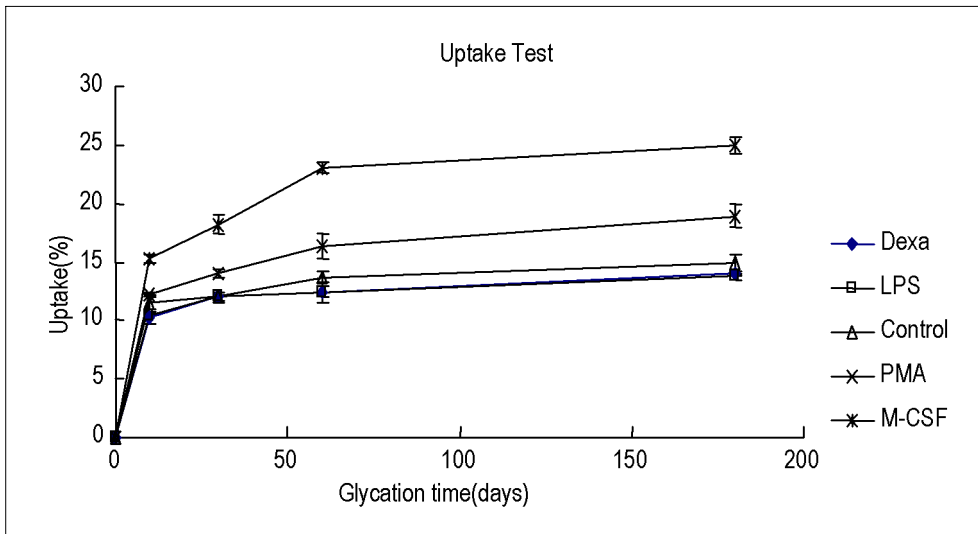


Fig. 3. Enhancement of uptake of 5-IAF-glycated-LDL on the degree of glycation in the presence of effectors.

Glycated-LDL (10, 30, 60 and 180 days) and native-LDL (0 day) were used for uptake test with macrophages in the presence of effectors

우는 supernatant에서 보여준 결과와는 반비례하는 결과를 보이며, 이것은 시간의 경과에 따라 macrophage에 의해 5-IAF labelled glycated-LDL의 uptake가 증가된다는 것을 알 수 있다. Fig. 2는 LPS와 dexamethasone 첨가에 의한 영향을 보여주며, Fig. 1과는 상반된 결과를 나타내지만, 이 결과 역시 MTT assay와 서로 일치되는 관계를 보여주고 있다. 즉, LPS와 dexamethasone의 첨가에 의해 macrophage cell의 differentiation이 감소하게 되어, 이러한 이유로 macrophage에 의한 uptake양이 감소한다는 것을 알 수 있다. Fig. 3은 10, 30, 60, 180일 glycation시킨 각각의 glycated-LDL에 5-IAF를 labelling하여 각각의 effector와 함께 30 시간 배양하여 supernatant를 수거하여 control을 기준으로 하여 흡광도를 측정한 결과이다. Native-LDL (0 day)를 blank로 하여 supernatant에서의 흡광값을 control (blank)과 비교하여 macrophage에 의한 uptake양을 계산한 결과이며, 이 결과에서는 glycation의 정도가 길어질수록 macrophage cell에 의한 glycated-LDL의 uptake양이 10일 glycated-

LDL에서 급격한 증가를 보였으며, 60days (glycation)까지는 완만하게 증가하는 pattern을 보였으며, 각각의 effector는 다른 uptake 결과를 보인다는 것을 알 수 있었다. 앞의 그림의 결과와 같이 M-CSF와 PMA를 첨가한 경우 macrophage에 의한 uptake양이 증가하는 모습을 보였으며 dexamethasone과 LPS를 배지에 첨가할 경우에는 uptake양이 control보다 낮게 보였으므로 이러한 effectord들이 macrophage와 modified LDL의 uptake에 환경적인 영향을 보임을 다시 한번 확인하였다.

2. Glycated LDL의 oxidation에 미치는 effector의 영향

Glycation 정도에 따른 MDA(malondialdehyde) 형성 양을 TBARS방법을 이용하여 비교 하였다. TCA로 단백질을 침전시켜, 원심분리한 후 TBA 시약을 넣고 15분 정도 끓는 물에서 중탕하면서 반응 시켜 532 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Fig. 4와 같이, glycation time이 증가될수록 MDA의 형성량이 증가하는 것으로 보아, 시간의

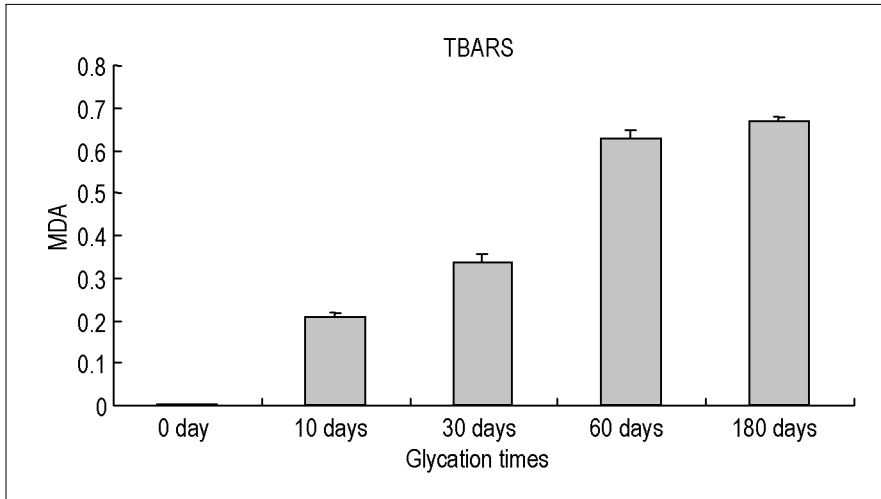


Fig. 4. Changes of TBARS value related to the degree of glycation
Fresh LDL was incubated for a period of time (0, 10, 30, 60 and 180 days) with glucose for glycation of LDL and then each glycation-LDL was dialyzed against PBS buffer to remove unreacted glucose.

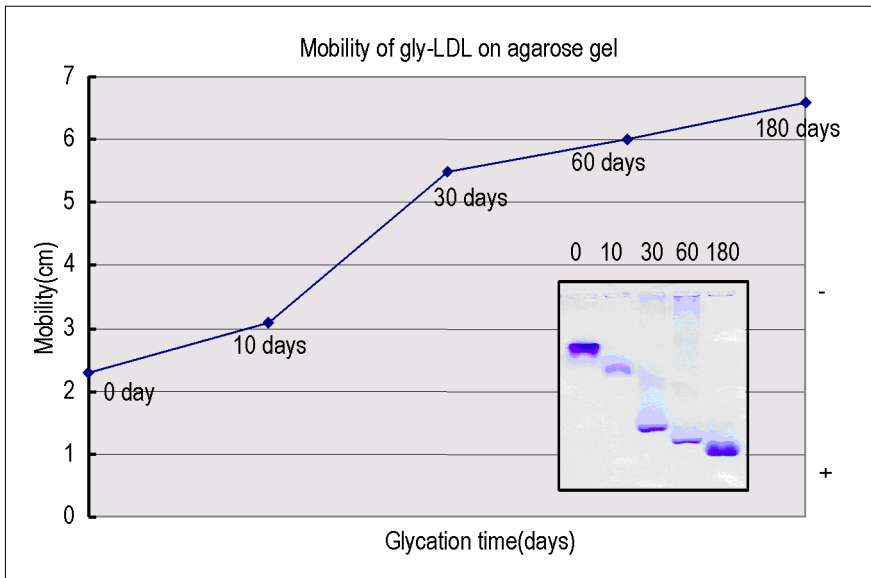


Fig. 5. Changes of mobility on agarose gel electrophoresis

경과에 따라 LDL의 산화에 의한 modification 정도가 증가하는 알 수 있었다. 이러한 결과를 다시 한번 확인하기 위해 agarose gel electrophoresis를 시행하였다 (Fig. 5). 0.5% agarose gel을 사용하여 5시간 동안 electrophoresis한 후 gel상에서

이동한 glycationed LDL의 이동 거리를 조사하여 얻은 결과이며, Fig. 5의 gel 사진은 5시간 동안 이동한 glycationed LDL의 이동 모습을 보여주고 있다.

위의 결과를 보면, LDL이 glucose와 비 효소적으로 반응하여 LDL 자체에 갖고 있던 positive

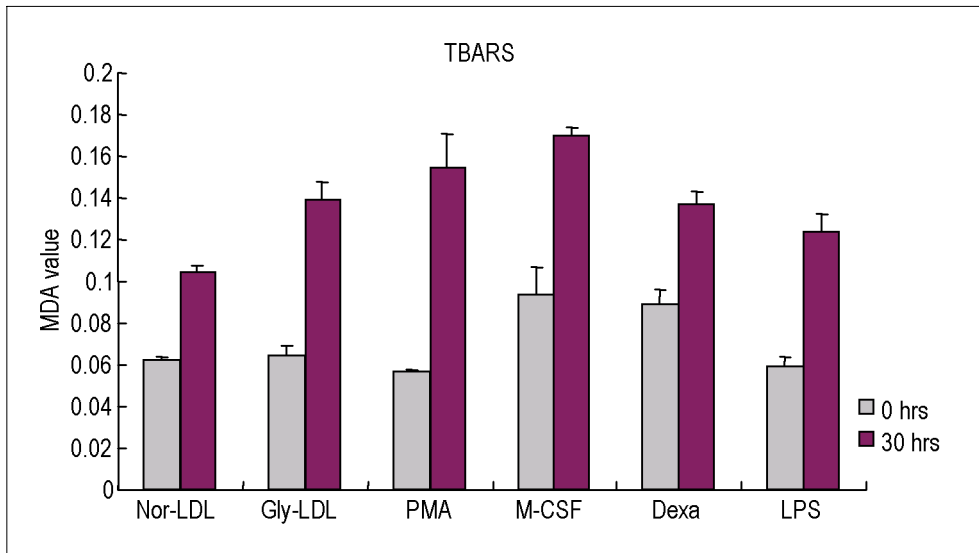


Fig. 6. Comparison of MDA formation on macrophage with effectors

Glycated-LDL (50 $\mu\text{g/mL}$) was added on each well in the presence or absence of effector with incubation times, 0 or 30 hours

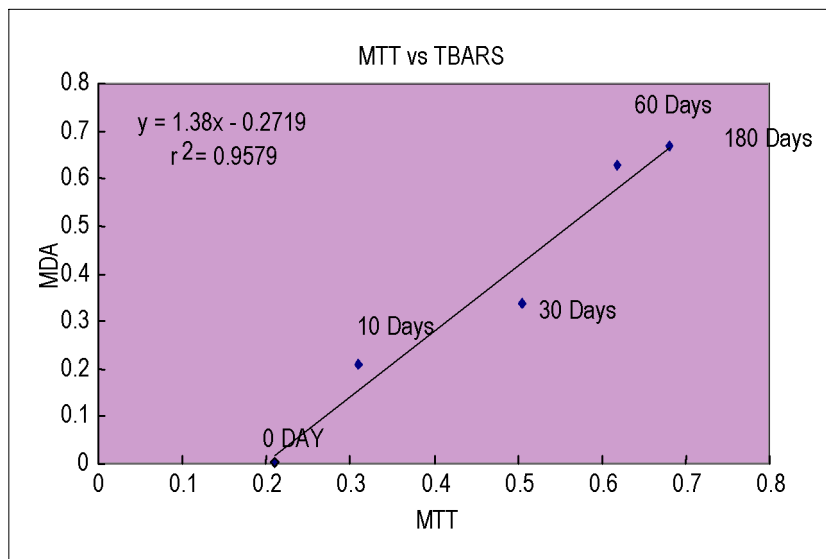


Fig. 7. The relationship between MTT and MDA formation

Native-LDL (0 day) and glycated-LDL (10, 30, 60 and 180 days) were used for the dexamethason of MDA and MTT in the absence of cytokine.

charge (lysine, arginine)를 가진 단백질 부분의 아미노산이 glucose의 C-C=O와 축합 반응되어, glycation 시간이 증가함에 따라 positive charge의

아미노산이 상대적으로 줄어들어 gel의 하단부 (positive charge)로 이동되는 것으로 설명할 수 있다. Fig. 6에서는 macrophage cell에 존재하는

glycated-LDL과 여러 effector가 존재할 때의 MDA 형성량을 측정하는 실험을 하였다. 0시간 일때의 MDA값을 측정하여 control로 하였고 monocyte를 분리하여 preincubation한 후 각각의 effector와 함께 glycated LDL (60 Days)을 첨가하여 co-incubation하였다. 전체의 부피를 동량으로 맞추기 위해 medium으로 보정하였다.

Fig. 7은 TBARS 측정치와 MTT의 결과를 상관관계로 표시한 것으로, native-LDL (0일) 및 glycated-LDL (0, 30, 60, 180일)의 MDA 형성과 MTT 결과로서, glycation시간이 길어짐에 따라 MDA의 형성량이 증가하며, 또한 MTT의 결과와 비례적으로 증가한다는 것을 알 수 있었다. 이러한 결과로서 modify된 정도가 높아질수록 macrophage에 의한 glycated LDL의 uptake가 증가되며, 또한 여러 effector에 따라 영향을 받는다는 것을 시사해 주고 있다

고 찰

최근, 동맥경화와 관련된 당뇨병의 합병증세는 주요 연구대상이 되고 있다⁹. 당뇨병 환자인 경우, 사망원인의 2/3 이상이 Cornary Heart Disease (CHD)에 의한 것으로 알려지고 있으며, 최근의 Joslin Clinic의 보고에 의하면, insulin-dependent-diabets melitus (IDDM)환자의 1/3이 CHD증세를 가지고 있으며 점차 증가 추세인 것으로 알려지고 있다. 이와 같이 최근에는 동맥경화는 다른 질환, 특히 당뇨병과의 관련성에 많은 관심을 가지게 되었다^{11,18}.

본 연구에서는, macrophage에 의해 uptake되는 glycated-LDL에 몇가지 effector의 존재 유무에 따라 effector들이 glycated-LDL의 uptake와 glycated-LDL의 glyco-oxidation에 미치는 영향을 연구하였다. effector로는 M-CSF, PMA, LPS, dexamethasone을 사용하였으며 macrophage는 인간의 혈액에서 monocyte를 분리하여 본 실험에 사용하였다.

M-CSF는 macrophage에 의한 acetylated-LDL의 uptake와 degradation을 그리고 cholesterol의 esterification을 촉진 시키는 것으로 보고된 바 있다^{10,11}. PMA 또한 macrophage에 의한 modified-LDL (oxidized 및 acetylated-LDL)의 uptake에 영향을 주는 것으로 알려져 있다¹². 본 실험에서는 *in vitro*에서 macrophage에 의한 modified-LDL (glycated-LDL)이 uptake될 때 effector가 미치는 영향을 연구 하였다. 또한 macrophage에 의한 glycated-LDL의 uptake에도 scavenger receptor가 관여하는 것으로 보고된바 있다^{14,16,26}. 또한 glucose와의 incubation에 의해 얻어지는 glycated-LDL은 glycation의 시간이 길어질수록 macrophage의 differentiation을 증가시켰으며¹⁷. MDA의 생성량을 비교해 볼때도 시간이 증가할수록 좀더 높은 수치를 보여주고 있다 (Fig. 4). 이러한 결과는 agarose gel을 이용한 electrophoresis를 통해서 다시 한번 확인해 볼 수 있었는데 glycation의 시간이 증가할수록 positive charge쪽으로 좀더 많이 이동되는 결과를 보여주고 있다 (Fig. 5). 30시간 incubation후 생성된 MDA양을 측정한 결과, M-CSF와 PMA에서 MDA형성 값이 높게 나타나는 것을 알 수 있었다. 이러한 결과는, uptake test에서 나타난 결과와 일치 하였으며, 이러한 실험의 결과로서, MDA의 형성은 직접적으로 agarose 전기영동에 의한 이동 (mobility)과 같은 LDL의 modification정도와 관련이 있다고 할 수 있다. 5-IAF labelling glycated-LDL을 만들어 macrophage에 의한 uptake양을 supernatant와 pellet으로 구분하여 각각 측정해 보았다 (Fig. 1, 2). M-CSF와 PMA의 supernatant에서는 macrophage와의 co-incubation시간이 증가할수록 unbound된 양이 감소하는 경향을 보여주었고 pellet에서는 배양 시간이 증가될수록 uptake된 양이 증가하는 모습을 나타냈으며 LPS와 dexamethasone은 이러한 결과와 상반되는 결과를 나타내었다. 또한 glycation time에 따른 cell에 의한 uptake를 조사하였을 때, MTT에서 나타난 결과와 유사한 형태로 glycation

time이 증가함에 따라 macrophage에 의한 uptake 양이 증가하는 모습을 보였다. 위의 결과로부터 macrophage에 의한 modified-LDL의 uptake에 stimulator로 작용하는 M-CSF와 PMA는 혈중에 glycated-LDL이 존재할 경우, 동맥경화의 촉진인자로 작용하고, macrophage의 분화에 stimulator로 작용한다는 것을 알 수 있었고 LPS와 dexamethasone의 경우는 반대의 효과를 나타냄을 알 수 있었다. oxidant (Cu^{+2})에 의한 glycated-oxidized LDL의 실험을 통해 본 실험과 유사한 결과들이 보고된 바 있지만^{21,24}, glycated-LDL에 관한 연구는 최근 연구되고 있는 상태이다. 본 연구에서는 직접적으로 macrophage와 glycated-LDL 그리고 몇 개의 effector들을 통한 cell과의 cocubation을 통해 동맥경화에 미치는 glycated-LDL의 영향 및 effector들의 효과를 알아보았다. 여기서 얻어진 결과를 통해, 정확한 mechanism은 아직 규명되지 않았지만, 사용된 effector들이 macrophage에 의한 glycated-LDL의 uptake에 stimulator 혹은 inhibitor로서 역할을 한다는 것을 알 수 있었고, 혈중 glucose의 농도가 높아지게 되면 여러 조직이나 혹은 단백질, 지질 등과의 결합을 통해 당뇨병과 관련된 합병증을 일으킬 수 있는 기회가 높아진다는 사실이 확인되었다.

또한 macrophage에 의한 glycated-LDL의 uptake에도 scavenger receptor가 관여하는 것으로 보고된바 있다^{19,22,23,25}. 당뇨병에서 다량 존재하는 glucose는 환원당과 환원당 대사물질에 의한 생체단백질의 glycosylation은 노화의 주요현상의 하나가 된다고 알려지고 있다¹³. 또한, glycosylation에 관여하는 glucose는 생체에 존재하는 protein과 중합현상을 보이며 melanoidine의 형성에 작용한다. 이러한 glucose와 생체단백질은 반응하여, 다수의 dicarbonyl화합물의 작용에 의하여, 3-deoxyglucosone을 생산물로 하며, 단백질의 lysine과 arginine 잔기를 공격하여 단백질의 중합시키는 것으로 알려져 있다. 생체의 Maillard 반응이 일어나고 있음이 입증된 것은 Hemoglob인의 성분인 HbA가

당뇨병 환자에 있어 증가한다는 보고 이후에 환원당과 단백질의 반응이 주목을 받기 시작했다¹¹. 당뇨병에 의한 glucose의 증가는 plasma의 LDL에 작용하여 endothelial cell 내에서 Gly-LDL을 형성함으로써 세포에 손상을 주는 것으로 나타나고 있으며, intima에서 foam cell형성에 직접 작용되는 것으로 알려지고 있다^{20,27}. 앞으로 macrophage mRNA의 양이 effector들에 의해 어떻게 변화되는지와 배지로부터 release되는 여러 물질들 (TNF- α , IL-1, IL-6. etc)을 antibody를 이용한 western blot 그리고 macrophage에 의해 생성되는 free radical (superoxide, H_2O_2)의 생성량 등을 통해 사용된 effector에 따라 어떤 변화가 나타나는지 알아보면, 체내에서 일어나는 복잡한 과정의 이러한 질병의 정확한 mechanism을 밝히는데 도움이 될 것으로 예상된다.

참 고 문 헌

1. Jessup W and Kritharides L. Metabolism of oxidized-LDL by macrophages. *Curr Opin Lipidol* 2000;11:473-481
2. Jonasson L, Holm J, Skalli O. Regional accumulations of T-cells, macrophages, and smooth muscle cells in the human atherosclerosis plaque. *Arteriosclerosis* 1986;6:131-136
3. Hsu HY, Nicholson AC, Hajjar DP. Inhibition of macrophage scavenger receptor activity by tumor necrosis factor- α transcriptionally posttranscriptionally regulated. *J Biol Chem* 1996; 271:7767-7773
4. Bottalico LA, Wager RE, Agellon LG, Assoian RK, Tabas I. Transforming growth factor- β inhibits scavenger activity in THP-1 human macrophages. *J Biol Chem* 1991;266:22866-22871
5. Sakai M, Kobori S, Miyazaki A, and Horiuchi S.

- Macrophage proliferation in atherosclerosis. *Current Opinion in Lipidology* 2000;11:503-509
6. Ishibashi S, Inaba T, Shimano H, Harada K, Inoue I, Mokuno H, Mori N, Gotoda T, Takaku F, Yamada N. Monocyte colony-stimulating factor enhances uptake and degradation of acetylated LDL and cholesterol esterification in human monocyte-derived macrophages. *J Biol Chem* 1990;265:4109-4117
7. Becker S, Kim M, Haskill S. Colony-stimulating factor-induced monocyte survival and differentiation into macrophages in serum-free cultures. *J Immunol* 1987;39:3703-3709
8. 유승재, 조현미, 정희경, 오수영, 황기철, 장양수, 신승언, 김태웅. macrophage 분화에 미치는 glycated-LDL 및 몇가지 effector의 영향. *한국지질·동맥경화학회지* 2001;11:500-510
9. Hayden JM and Reaven PD. Cardiovascular disease in diabetes mellitus type 2 : a potential role for novel cardiovascular risk factors. *Current opinion in Lipidology* 2000;11:519-528
10. Brian J, Alan VL, Fogelman M, Seager J, Ribi E, Haberland ME, Edwards PL. Bacterial endotoxin selectively prevents the expression scavenger-receptor activity on human monocyte-macrophages. *J Immunol* 1985;6:3718-3721
11. Brownlee M. Non-enzymatic glycosylation of macromolecules: Prospects of Pharmacologic modulation. *Diabetes* 1992;41:57-60
12. Hermann E, Martina DR, Georg WS, Gunther J. Biochemical, Structural and Functional Properties of Oxidized Low Density-Lipoprotein. *Chemical Research in Toxicology* 1990;3:236-254
13. Dunn JA, Patrick JS, Thorpe SR, Baynes JW. Oxidation of Glycated Proteins: age-dependent accumulation of N ϵ -(Carboxymethyl)-lysine in human lens proteins. *Biochemistry* 1989;28: 9161-9168
14. Choi JH, Park YJ, Son HS, Kim TW. Functional properties of modified LDL and degradation of modified LDL human monocyte-macrophages. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 1995;24:362-369
15. Fogelman AM, Haberland ME, Seager J, Hokom M, Edwards PA. Factors regulating the activities of the low density lipoprotein receptor and the scavenger receptor on human monocyte-macrophages. *J Lipid Res* 1981;22:1131-1141
16. Sakai M, Miyazaki A, Hakamata H, Sasaki T, Yui S, Yamazaki M, Shichiri M, Horiuchi S. Lysophosphatidylcholine plays an essential role in the mitogenic effect of oxidized low density lipoprotein on murine macrophages. *J Biol Chem* 1994;269:31430-31435
17. 김기모, 김태웅. Glycated-LDL이 macrophage 및 fibroblast와의 결합력 연구. *한국지질학회지* 1997;7:1-10
18. Bucala R, Makita Z, Koschinsky T, Cerami A, Vlassara H. Lipid advanced glycosylation. Pathway for lipid oxidation in vivo. *Proc Natl Acad U S A* 1993;90:6434-6438
19. Inoue I, Inaba T, Motoyoshi K, Harada K, Shimano H, Kawamura M, Gotoda T, Shiomi M, Watanabe Y: Monocyte colony-stimulating factor prevents the progression of atherosclerosis in Watanabe Heritable Hyperlipidemic rabbits. *Atherosclerosis* 1992;93:245-254
20. Brown MS, Goldstein JL. Lipoprotein metabolism in the macrophage: Implications for cholesterol deposition in atherosclerosis. *Annu Rev Biochem* 1983;52:223-261
21. Goldstein JL, Ho YK, Basu SK, Brown MS. Binding site on macrophages that mediates uptake and degradation of acetylated-LDL, producing massive cholesterol deposition. *Proc Natl Acad Sci USA* 1979;333-337
22. Henriksen T, Mahoney EM, Steinberg D.

- Enhanced macrophages degradation of biologically modified low density lipoprotein. *Arteriosclerosis* 1983;3:149-159
23. Hsu HY, Nicholson AC, Hajjar DP. Inhibition of macrophage scavenger receptor activity by $\text{TNF-}\alpha$ is transcriptionally and post-transcriptionally regulated. *J Biol Chem* 1996;271:7767-7773
 24. Biwa T, Sakai M, Matsumura T, Kobori S, Kaneko K, Miyazaki A, Hakamata H, Horiuchi S and Shichiri M. Sites of action of protein kinase C and phosphatidylinositol 3-kinase are distinct in oxidized Low Density Lipoprotein-induced macrophage proliferation. *J Biol Chem* 2000;275:58910-58916
 25. Hsu HY and Twu YC. $\text{TNF-}\alpha$ mediated protein kinases in regulation of scavenger receptor and foam cell formation on macrophage. *J Biol Chem* 2000;275:41035-41048
 26. Whitman SC, Daugherty A and Post SR. M-CSF rapidly enhances β -migrating VLDL metabolism in macrophage through activation of a Gi/o protein signaling pathway. *J Biol Chem* 2000;275:35807-35813
 27. Martens JS, Reiner NE, Herrera-Velit P and Steinbrecher UP. Phosphatidylinositol 3-kinase is involved in the induction of macrophage growth by oxidized LDL. *J Biol Chem* 1998; 273:4915-4920